

Evaluation d'appareils destinés à la pratique pour la mesure de l'acide malique dans les moûts et les vins

Sandrine BELCHER et Sevan KUYUMCUYAN, Agroscope, Institut des sciences en denrées alimentaires (IDA), 1260 Nyon
Renseignements: Sandrine Belcher, e-mail: sandrine.belcher@agroscope.admin.ch, tél. +41 58 460 43 36, www.agroscope.ch



Introduction

Avec l'acide tartrique, l'acide malique est l'un des principaux acides du raisin, présent essentiellement sous la forme L-malique (isomère gauche). Leur balance avec le cation majoritaire du raisin K^+ est responsable de 90 % de cette acidité. Accumulé par biosynthèse dans la baie au cours de la croissance herbacée jusqu'à la véraison, l'acide malique, contrairement à l'acide tartrique qui évolue plus faiblement, diminue pendant la maturation par la dilution due au grossissement de la baie, mais aussi par combustion (respiration). Sa dégradation est d'autant plus rapide que les températures sont élevées.

La gestion des rapports sucres/acides et des équilibres malique/tartrique/ K^+ est un paramètre important pour la qualité de la vendange, tant du point de vue sensoriel (équilibre, arôme, couleur) que pour la stabilité du vin. Lorsque les sucres ont disparu (fermentation alcoolique), l'acide malique peut en effet être fermenté par les bactéries, soit de façon spontanée, soit de façon volontaire, et être transformé en acide lactique, qui donne un caractère plus «souple» et moins «vert» au vin. Cette fermentation malolactique, qui augmente également la stabilité microbienne des vins, est d'usage courant pour les vins rouges et, en Suisse, pour la plupart des vins blancs.

Il est donc important de pouvoir mesurer ce paramètre lors de la maturation, de même que lors de la deuxième fermentation (pour contrôler son bon déroulement ou pour l'éviter afin de préserver le caractère et l'arôme d'un cépage particulier).

Les sucres et l'acidité totale sont relativement faciles à mesurer pour la majorité des praticiens, viticulteurs ou œnologues, mais l'opération est plus délicate pour l'acide malique. Les méthodes officielles font généralement appel à un appareillage coûteux et à des techniques d'analyse de laboratoire rigoureuses et pointues. Ces méthodes officielles reposent, d'une part, sur la chromatographie liquide à haute pression (HPLC), qui peut également doser simultanément les autres acides organiques, les sucres et les alcools et, d'autre part, sur les mesures spectrométriques réalisées après réaction quantitative du L-malate (sel de l'acide L-malique) avec des enzymes spécifiques.

L'objectif de cette étude était de tester des alternatives à ces méthodes complexes, proposées à l'usage des praticiens par certains fabricants sous forme de kits et d'appareils peu coûteux, prêts à l'emploi et ne nécessitant pas ou peu d'expérience technique particulière. Ces instruments ont été examinés sur le plan pratique et analytique, en privilégiant le rapport fiabilité/praticité plutôt que la seule précision analytique, lors d'un suivi de maturation du raisin de même qu'en cours de fermentation malolactique.

Matériel et méthodes

Instrumentation

Trois appareils présents sur le marché ont été retenus¹:

- **MegaQuant® de Megazyme International Ireland Limited**

Ce kit se compose de cinq flacons numérotés prêts à l'emploi, d'un mini-spectromètre portable (piles) et de tubes de réaction/lecture de 10 ml à fond plat, le tout pouvant être facilement transporté sur le terrain dans une petite mallette ad hoc. Le mode d'emploi est très simple et guide l'utilisateur pas à pas (flacon 1, flacon 2, etc.). Le principe repose sur une réaction d'oxydation du L-malate par des enzymes spécifiques, légèrement modifiée par rapport à la réaction habituelle pour pouvoir lire l'absorbance dans le domaine visible (505 nm), grâce à l'ajout d'une troisième enzyme, et augmenter la stabilité des réactifs. Ceux-ci se présentent sous forme de liquides, suspensions ou pastilles contenant déjà des conservateurs (sodium azide, dessicant) et

¹Les fabricants cités ont tous acceptés la mention explicite de leur marque dans le présent rapport.

Résumé ■ Trois appareils peu coûteux, simples à utiliser et orientés vers la pratique ont été testés et comparés avec une méthode de référence d'Agroscope pour la mesure de l'acide malique pendant la maturation du raisin et lors d'un suivi de fermentation malolactique à la cave. Moyennant un minimum de formation, de rigueur expérimentale et de prise en main, ces appareils, par leur facilité d'utilisation et leur fiabilité analytique, offrent la précision souhaitée pour un usage vitivinicole classique, notamment en Suisse romande, où l'acide malique dépasse rarement 10 g/l à la vendange.

sont garantis stables pendant plus de deux ans. Après avoir respecté les étapes de la procédure, l'appareil fournit en près de cinq minutes une absorbance proportionnelle à la concentration en acide malique, jusqu'à concurrence de 0,75 g/l. Au-delà, des dilutions sont nécessaires. Au besoin, Megazyme met à disposition un fichier de type Excel pour le calcul direct des concentrations (dilution + facteur) et la présentation d'un tableau de synthèse des essais.

- **Biolan® de Biolanmb**

Il s'agit d'un biocapteur enzymatique avec détection ampérométrique, transportable, mais destiné à être installé sur une table (prise 220V). Il est composé d'une électrode de référence Ag/AgCl démontable, d'une électrode auxiliaire fixe et d'une électrode de travail (*Biotest*) à connecter sur laquelle sont immobilisés les enzymes spécifiques à l'analyte brevetés par le fabricant. En appliquant un potentiel, on crée des réactions *RedOx* successives, le courant circulant entre les électrodes étant proportionnel à la concentration. Le protocole est prévu pour deux domaines de mesures, 0–1 g/l ou 2–4 g/l. Un calibrage avec une solution étalon est indispensable à chaque activation du *Biotest* et des dilutions sont nécessaires en dehors de ces domaines. Les électrodes de travail sont prévues pour des séries de 15, 30 ou 50 mesures (calibrages compris) et se conservent une dizaine de jours au réfrigérateur après hydratation (un mois non hydraté). Le montage, l'hydratation et l'activation du biocapteur ainsi que l'étalonnage sont des étapes assez longues, mais cinq minutes par échantillon (signal acoustique) suffisent ensuite pour lire le résultat dans la bonne unité si l'on a pris soin de respecter les rapports de volumes préconisés pour chaque gamme de calibrage. L'appareil peut garder en

Tableau 1a | Comparatif des paramètres analytiques

	Méthode de référence Agroscope Changins (analyseur séquentiel)	WineScan® (Foss)	MegaQuant® (Megazyme)	Biolan® (Biolanmb)	RQflex plus® (Merck)
Quantité d'échantillon nécessaire au dosage (après dilution éventuelle)	10 ml	~20 ml	20 ml	30–40 ml	2–3 ml (immersion bandelette)
Gamme de mesure en g/l (sans dilution)	0,04–0,5	3–25 (moûts) 0,6–6 (vins)	0,007–0,75	0–4	0,005–0,06
Dilution moyenne utilisée (pour moûts entre 4 et 20 g/l)	5 à 50x	sans dilution	10 à 50x	2 à 10x	100 à 500x
Temps de préparation avant analyse (hormis pressurage/ centrifugation du moût et dilution)	étalonnage début journée (~20 min)	stabilisation début de journée (~15 min)	2–3 min	stabilisation (°T amb) + activation: ~10min étalonnage chaque 15 éch. ~5min	–
Temps de réaction/analyse	6 min 15	~1 min	5 min (+1 min contrôle)	5 min	5 min
Automatisation (en série)	oui	oui	non (chronomètre)	non (compteur intégré)	non (compteur intégré ou chronomètre)
Calibrage	3 points	base de données de l'instrument	non (facteur prédéfini)	1 point	–
Standard ou échantillon de contrôle	oui	oui	conseillé	oui (identique au standard de calibrage)	conseillé
Sortie du résultat	directe (x dilution)	directe	mesure x facteur (x dilution)	directe (x dilution)	directe (x dilution)
Stockage des résultats	PC on line	PC on line	non	450 (logiciel de transfert nécessaire)	50 (logiciel de transfert nécessaire)
Nombre de dosages par kit	~400 (y. c. calibrage)	-	60	à choix 15-30-50 (y. c. calibrage)	50
Durée de conservation du kit	4 mois (4 °C après mélange enzymes)	-	> 2 ans (4 °C/-20 °C enzymes)	30 j (déshydraté) 10–15 j (4 °C) après hydratation	> 2 ans (4 °C)
Estimation des coûts: appareillage et consommables pour env. 100 analyses (CHF)	~25000.– ~50.–/100 éch.	~120 000.– ~500.– (>10 paramètres)	~800.– ~300.–/100 éch.	~7000.– ~350.–/100 éch.	~1200.– ~200.–/100 éch.
Alimentation /poids	prise de courant 45 kg + PC	prise de courant > 100 kg + PC	2x LR06 (AA, 1,5V) < 200 g	Prise de courant env. 5 kg	4x LR03 (AAA, 1,5V) < 250 g»

Tableau 1b | Comparatif des procédés de décoloration suggérés pour les vins rouges (pour une concentration attendue d'acide malique < 1g/l)

	Méthode de référence Agroscope Changins (analyseur séquentiel)	WineScan® (Foss)	MegaQuant® (Megazyme)	Biolan® (Biolanmb)	RQflex plus® (Merck)
Quantité d'échantillon nécessaire à la dilution	5 ml	sans dilution	5 ml	1 ml	10 ml
Médium	PVPP (poudre)	–	PVPP (pastille)	charbon actif	charbon actif (Granucol®)
Fourni par fabricant	non	–	oui (flacon N° 5)	oui (dans eppendorf)	non
Filtration	filtre plissé ou filtre seringue	–	filtre plissé	surnageant après centrifugation	filtre plissé
Temps de décoloration	1–5 min	–	5 min	10 min	1 min

mémoire 450 résultats. Un transfert sur ordinateur est possible, moyennant un logiciel spécifique disponible auprès du fabricant.

- **RQflex® plus de Merck**

Il s'agit également d'une réaction enzymatique du L-malate, mais cette fois-ci les réactifs sont immobilisés sur une bandelette biodégradable de type test de grossesse. Cette bandelette est directement plongée dans l'échantillon, puis égouttée. Les deux zones réactionnelles se colorent différemment et sont quantifiées après cinq minutes à l'aide d'un mini-réflexomètre portable (à piles) à optique double. Le kit se compose de 50 bandelettes et d'un code-barres qui indique à l'appareil les paramètres analytiques spécifiques de l'analyte (temps de réaction, facteur de calibrage et corrections de longueur d'onde). Le résultat est direct dans le domaine 5 à 60 mg/l d'acide malique. Au-delà, l'échantillon doit être dilué. Lors de mesures en série, seul le premier décompte est effectué par l'appareil, pour les mesures suivantes, un chronomètre est nécessaire. Aucun calibrage n'est requis (facteur sur code-barres), mais des échantillons de contrôle sont recommandés. Le kit (tube étanche) se conserve environ deux ans au réfrigérateur. Remarque: le modèle RQflex® «plus» possède un adaptateur qui permet de substituer les bandelettes par des cuves spectrométriques. L'objectif étant ici de tester trois appareils différents, le mode cuvette (trop semblable au MegaQuant®) n'a pas été retenu.

En parallèle, les échantillons ont été mesurés avec la méthode de référence utilisée par Agroscope à Changins (accréditée STS223, servant notamment à la publication des résultats des suivis hebdomadaires des parcelles de référence lors des maturations): son principe se base sur l'oxydation du L-malate par des enzymes spécifiques, suivie d'une lecture de l'absorbance à 340 nm. C'est une méthode entièrement automatisée à l'aide d'un spectromètre séquentiel. Pour comparaison, les échantillons ont également été mesurés à l'aide de la technique indirecte multi paramètres basée sur l'infrarouge à transformée de Fourier (WineScan® de Foss) utilisée en routine par le laboratoire sur plus de 20 000 échantillons par an (raisins, moûts, vins en cours de fermentation, bouteilles). Bien qu'extrêmement rapide, cette technique nécessite une mise au point importante, n'est pas adaptée à la mesure sur le terrain et n'entre pas en concurrence avec les appareils testés ici, plus orientés vers la pratique.

Les caractéristiques des cinq méthodes utilisées sont résumées et comparées dans le tableau 1a. Les dilutions ont été effectuées à l'aide d'un diluteur automatique de type Hamilton. Les calculs et statistiques ont été réalisés avec le logiciel Excel Stat (2011).

Echantillons

Les moûts sont issus de raisins pressés selon le protocole standard de suivi des maturations des domaines d'Agroscope durant la période août-septembre 2013. Sept à huit pointages ont été effectués sur Pinot noir (Lavaux), Chasselas (Lavaux) et Arvine (Valais). Les moûts ont été congelés et stockés à -10 °C avant analyse.

Pour le suivi des fermentations malolactiques, deux vins ont été prélevés à la cave expérimentale de Changins et analysés immédiatement: un assemblage de vins blancs et un Merlot (Lavaux) à différentes phases (deux ou trois prélèvements sur une semaine). Pour les essais de décoloration, les mêmes vins ont été utilisés ainsi que des échantillons fraîchement prélevés fournis par des clients externes: trois vins blancs, un rosé et deux rouges (dont l'un particulièrement riche en polyphénols).

Comme contrôles ont été utilisés les standards fournis par les kits Biolan® (0,6 g/l) et MegaQuant® (0,375 g/l), un standard multi-éléments fabriqué et utilisé dans le cadre de la méthode de référence d'Agroscope (2 g/l), un jus de raisin utilisé comme témoin lors du suivi des maturations (4 g/l), un vin témoin issu de la cave expérimentale de Changins (0,4 g/l) et un Titrivin® (certifié à 0,95 g/l).

Résultats et discussion

Matériel

Facilité d'utilisation et contraintes éventuelles

Malgré leur facilité d'utilisation, les trois appareils ont demandé quelques essais préliminaires de «prise en main», au cours desquels les mesures étaient fausses ou impossibles à réaliser (décompte du temps, erreur de touche, nettoyage des tubes spectrométriques, placement ou activation de l'électrode, séchage des bandelettes, etc.). Il est donc recommandé de se familiariser avec les procédures et de tester des échantillons connus avant toute utilisation sur le terrain. Cette remarque vaut notamment pour les praticiens peu formés aux manipulations du matériel de laboratoire ou qui emploient plusieurs auxiliaires durant les vendanges/vinifications. Comme pour la plupart des méthodes analytiques, les résultats sont plus consistants si c'est toujours la même personne qui effectue les séries de tests; la bonne formation et la continuité sont essentielles.

Les principaux avantages et inconvénients sont résumés dans le tableau 2.

- **MegaQuant®**: il est indispensable d'utiliser les tubes de mesure fournis par le fabricant afin qu'ils s'adaptent parfaitement à l'appareil (diamètre, épaisseur, fond plat). Ils doivent être soigneusement nettoyés et séchés, sans aucunes traces (fibres de linge, doigts), sous peine

de voir apparaître un code d'erreur lors de la lecture de l'absorbance. Par contre, le kit est très facile à employer et aisément transportable sur le terrain et la durée de vie des réactifs est largement supérieure à ce que l'on propose généralement sur le marché.

- **Biolan®**: à l'opposé du précédent, la durée de vie des consommables de Biolan® est très courte. C'est un appareil à utiliser pour de petites séries groupées. Il est trop long à mettre en route pour des échantillons isolés et l'on gaspille à chaque fois au minimum deux positions pour les calibrages et contrôles. Plus lourd et encombrant, à brancher sur une paillasse, il est moins adapté à l'usage de terrain. Il est aussi assez fragile et l'installation des électrodes est délicate (il ne faut pas toucher la surface bioactive avec les doigts). Si la gamme de mesure apparente est plus étendue que pour les deux autres instruments, c'est parce qu'en fait la dilution préliminaire est incluse dans le protocole: l'échantillon (30, 40 ou 120 µl selon les cas) est injecté dans la solution de mesure qui sert en même temps d'électrolyte. Or ce volume, bien que 1000 fois plus grand (20 ou 60 ml), doit également être mesuré avec précision, car le résultat est automatiquement calculé selon ce rapport de volume (échantillon/solution). Il est recommandé d'utiliser un distributeur pour flacon (type Dispensette®) afin de doser le liquide de façon comparable à chaque fois (standards, échantillons). Cet accessoire devrait même être proposé en option à l'achat de l'appareil, qui y gagnerait en fiabilité et maniabilité. Il est également conseillé de relever manuellement les résultats au fur et à mesures car la méthode actuelle d'identification interne n'est pas très aisée (limitée à sept caractères obtenus via un curseur mobile se déplaçant à l'aide de flèches sur une fenêtre alphanumérique). Cet inconvénient devrait être corrigé dans les versions futures de l'appareil.

- **RQflex®**: son principal inconvénient est le domaine de mesure de l'absorbance qui oblige l'opérateur à travailler à de hautes dilutions. Un autre désagrément provient du décompte interne de l'appareil au moment où l'on appuie sur «Start». Aucune lecture ne peut être faite avant la fin du décompte, ce qui implique d'attendre à chaque fois avant de recommencer, même en cas d'erreur. D'autre part, la durée d'affichage semble passer trop vite en mode «veille», ce qui gêne les mesures en série et oblige à rallumer à chaque fois l'appareil. Par contre, plusieurs échantillons devraient pouvoir être testés par intervalles de 10–15 secondes (par exemple) en trempant les bandelettes les unes après les autres, en enclenchant le décompte pour la première et en insérant les autres selon ce même intervalle dans le réflectomètre pour la lecture finale. Cette tactique est d'autant plus envisageable que les bandelettes ne paraissent pas souffrir de la lumière pendant la réaction (aucune différence en conservant ou non les bandelettes à l'obscurité avant mesure). Enfin, la bandelette doit impérativement être bien séchée avant insertion dans l'appareil, et l'optique nettoyée (avec du buvard coupé en bande par exemple) entre chaque échantillon, pour éviter de contaminer les suivants.

Contrôles et stabilité des étalonnages

Les échantillons de contrôle n'ont jamais dépassé 5–10 % de la valeur nominale ou attendue pour aucune des méthodes testées, ce qui est conforme aux indications des fabricants (ex. ±50 mg pour le standard Biolan de 0,6 g/l) comme aux normes internationales (reproductibilité selon l'OIV en g/l: 0,05+0,071*Concentration). C'est également comparable à la méthode de référence utilisée (Fidélité intermédiaire en g/l: 0,1+0,03*Concentration). Le capteur Biolan® nécessite

Tableau 2 | Résumé des principaux avantages et inconvénients techniques de chaque appareil

	MegaQuant® (Megazyme)	Biolan® (Biolanmb)	RQflex plus® (Merck)
Avantages	Durée de conservation du kit Tubes prêts à l'emploi et procédure aisée (1-2-3-4) Prix Portabilité (taille/poids) – utilisation sur le terrain	Pas de dilution pour la majorité des échantillons (< 4g/l) Idéal pour de petites séries groupées (< 20 échantillons)	Pas de réactifs (bandelettes prêt-à-l'emploi) d'où: – bonne conservation, – pas d'ajout avec micropipettes Prix Portabilité (taille/poids) – utilisation sur le terrain
Inconvénients	Tubes de mesure: – spécifiques à l'appareil (fond plat) – intégrité (sans traces) Lecture d'absorbance (calcul à faire pour le résultat) Utilisation de micropipettes	Durée de vie de l'électrode (+ réhydratation pendant ~12h), destiné à être fixe plutôt que portable (prise de courant, encombrement, fragilité) Non adapté pour échantillon isolé Installation/prise en main utilisation de micropipettes	Grandes dilutions nécessaires Durée de l'affichage du résultat Carry over et nettoyage de la cellule

un calibrage régulier. La valeur du standard après calibrage a été donc suivie durant toute la période du test (soit sur environ quatre mois): le résultat varie entre $0,61 \pm 0,06$ g/l, ce qui démontre à la fois la stabilité des lots et leur homogénéité (trois senseurs ont été utilisés sur l'ensemble des tests).

Mesures

Effet de la préparation des échantillons

Dilution: la partie la plus délicate est sans conteste la dilution préalable des échantillons, notamment pour les moûts, rendue indispensable par les domaines de mesure des appareils (voir tabl. 1a). Pour être suffisamment précises, ces dilutions de recourir soit à des diluteurs automatiques, soit à des microseringues (voire à une combinaison des deux). Ces instruments ou techniques ne sont pas nécessairement à la portée de tous les praticiens. Des dilutions plus courantes (avec des pipettes de 1–5 ml et des ballons jaugés de 100 ml par exemple) ont montré que les erreurs deviennent trop importantes et la répétabilité moins bonne (surtout lorsqu'il faut le faire en série comme avec le RQflex®). Il est donc recommandé d'investir dans un équipement ad hoc et, surtout, de former le personnel à l'usage des micropipettes. De tels accessoires pourraient d'ailleurs être judicieusement proposés en option à l'achat des appareils. Avec un bon entraînement, la répétabilité (voir ci-dessous) est tout à fait acceptable et comparable aux méthodes de référence. Il est également suggéré d'utiliser des microseringues, plus précises que des micropipettes, lorsque les volumes à prélever sont faibles (par exemple $< 100 \mu\text{l}$).

Concernant l'appareil Biolan®, une alternative intéressante, testée avec succès dans notre laboratoire, serait de pré-diluer plus fortement l'échantillon de départ et de diminuer le volume de solvant de réaction pour pouvoir utiliser des volumes de prélèvement plus grands et plus reproductibles. Par exemple, dans le domaine de mesure 2–4 g/l: diluer le moût 20 fois plus au départ, puis pipeter 200 μl dans 20 ml au lieu des 30 ou 40 μl (très difficile pour les non-spécialistes) dans les 60 ml prescrits par le fabricant.

Effet matrice: les réactions enzymatiques en jeu dans les trois appareils testés sont suffisamment spécifiques pour que les interférences dues aux sucres, acides ou alcools soient négligeables. Par contre, comme il s'agit de réactions colorimétriques, la couleur des échantillons peut être une source de problèmes. Chacun des fabricants suggère de prétraiter les échantillons riches en polyphénols avec des méthodes utilisant du PVPP ou du charbon actif (voir tabl. 1b). Les tests de décoloration des vins rouges montrent une perte significative

du signal ($> 15\%$), pour le Biolan® comme pour le RQflex® (MegaQuant® non testé). Cette perte est d'autant plus importante que le vin est coloré (jusqu'à 96 % pour l'échantillon très riche en polyphénols). De plus, même sur les moûts dilués ou les vins blancs (où la décoloration est inutile), on observe une perte de 6 à 30 % du signal, ce qui montre que les procédés de décoloration proposés ne sont pas du tout applicables. Heureusement, les dilutions nécessaires la plupart du temps rendent finalement caduque l'obligation de décolorer, sauf pour les vins très rouges en fin de fermentation malolactique, une étape où de toute façon la précision des résultats n'est plus garantie, même avec les méthodes de référence classiques.

Répétabilité et équivalence des appareils

Temps d'analyse: les appareils testés ont tous un temps de réaction d'environ cinq minutes, limité par un décompte automatique pour le Biolan® et le RQflex®. Par contre, avec le MegaQuant®, il est conseillé de vérifier la stabilité du résultat durant une ou deux minutes supplémentaires. Afin de vérifier que la réaction était bien complète après cinq minutes et qu'il n'y avait pas d'artefacts en cas d'attente trop longue, la lecture de quelques échantillons a été poursuivie à 10-15-20-30 et même 40 minutes après réaction. Les variations ont été inférieures à 10 % dans la majorité des cas, ce qui montre que la réaction est bien complète après cinq minutes et assez stable dans le temps. Seul un échantillon de moût avec une absorbance très faible ($< 0,2$), certainement trop dilué au départ, et un vin très coloré ont été jugés instables ou produisant des artefacts (environ 40 % d'écart après trente minutes), certainement plutôt à cause de l'atypicité des échantillons que d'un problème méthodologique. La fiabilité de l'appareil ne peut pas être remise en cause à ce niveau.

Répétabilité intra-instrument: trois échantillons de concentrations différentes ont été analysés en triplicats par chacune des méthodes (un moût à environ 4 g/l et deux vins à environ 3 g/l et 1 g/l). Les résultats sont donnés dans le tableau 3. Bien que plus élevée qu'avec les méthodes officielles préconisées par l'OIV, la répétabilité observée est tout à fait acceptable. Elle correspond à des erreurs de plus ou moins 0,3 g/l d'acide malique. Ces trois échantillons n'étant pas suffisamment représentatifs de l'ensemble des mesures, une analyse de variance ne permet pas de conclure que l'un ou l'autre appareil est moins précis que la méthode de référence.

Comparaison des instruments: toutes valeurs confondues, les trois appareils ne se distinguent pas statistiquement de l'analyseur séquentiel (fig. 1) ou du WineScan. Avec un seuil alpha de signification de 5 %,

il y a plus de 70 % de similitude entre les diverses mesures. Sur la figure 1, le MegaQuant® semble néanmoins fournir les résultats les plus proches de la méthode de référence. Ceci a été confirmé en comparant deux à deux (tests de t) chacune des méthodes avec la méthode de référence. Seul le MegaQuant® est cette fois statistiquement comparable (p-bilatéral = 0,065).

Ce résultat n'est pas une surprise puisque le mode opératoire et la réaction enzymatique en jeu sont quasiment identiques. La différence vient de la précision due à la non-automatisation et à la manipulation de micro-quantités pas toujours adaptées à des situations «hors laboratoire».

Avec le Biolan®, les risques d'erreurs de manipulation sont encore plus grands (rapport échantillon/volume de solution de mesure > 1000, stabilité des électrodes). Quant au RQflex®, même si de prime abord ses performances semblent légèrement inférieures, les résultats obtenus dans le cadre de cette étude sont remarquables. A part un domaine de mesure réduit qui oblige l'opérateur à effectuer de grandes dilutions (et qui multiplie donc potentiellement les sources d'erreur), il a l'avantage d'être une technique «facile» d'accès et très «parlante» pour un praticien.

Applications pratiques en viticulture-œnologie

La performance des trois appareils a été concluante dans la pratique pour l'analyse des moûts et des vins en

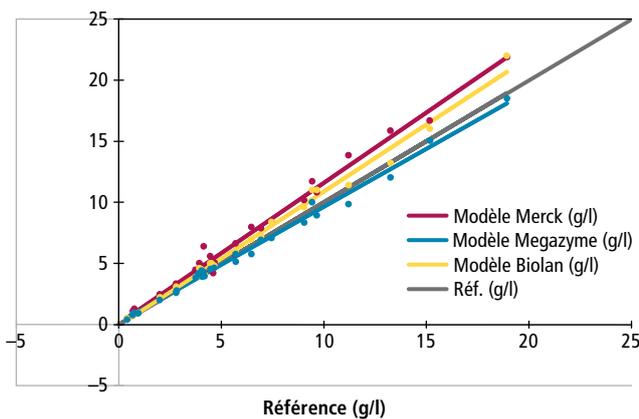


Figure 1 | Comparaison des résultats des instruments par rapport à la méthode de référence (acide malique en g/l).

cours de fermentation. La figure 2 montre leur utilisation pratique pour le suivi de la maturation sur trois cépages différents. La précision des méthodes est amplement suffisante pour permettre au praticien de déterminer l'évolution du raisin et s'il doit désacidifier ou non le moût de vendange. Seul le premier point (concentrations élevées, dilutions nécessaires importantes) est plus difficile à établir, mais il n'est pas critique ni significatif à ce stade (hétérogénéité de la parcelle),

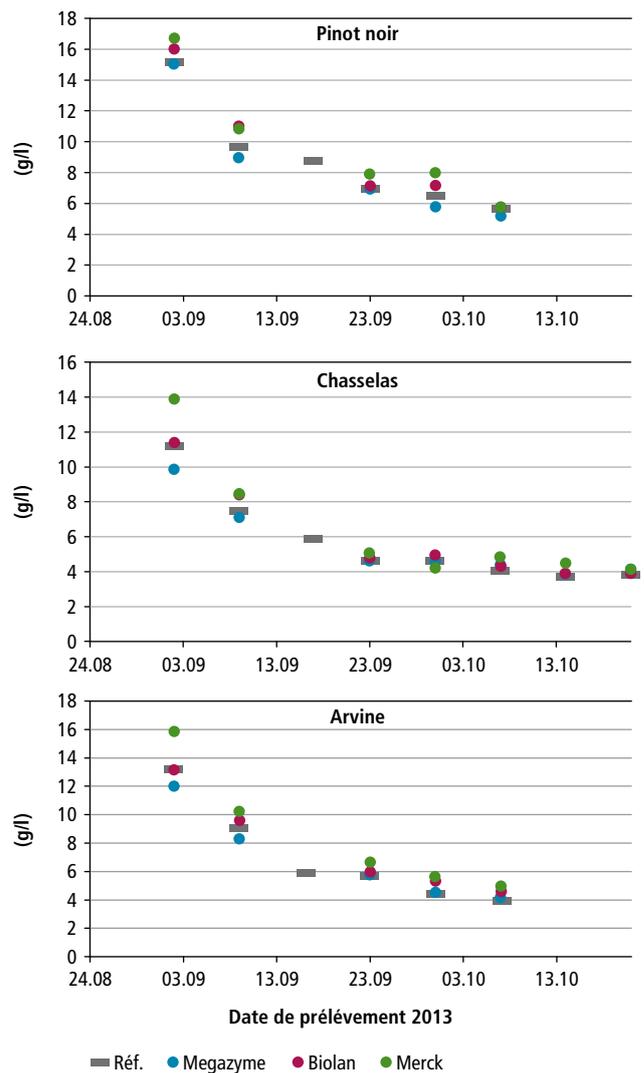


Figure 2 | Suivi de l'acide malique lors de la maturation des raisins de trois cépages.

Tableau 3 | Répétabilité (r, en g/l) par instrument de la mesure d'acide malique

	Méthode de référence (analyseur séquentiel)	Norme OIV (calcul)	MegaQuant® (Megazyme)	Biolan® (Biolanmb)	RQflex plus® (Merck)
Valeur attendue ~4 g/l (moût)	0,15 (B)	0,17	0,25 (C)	0,4 (B)	0,6 (A)
Valeur attendue ~3 g/l (vin)	0,03 (B)	0,13	0,60 (B)	0,4 (B)	0,4 (A)
Valeur attendue ~1 g/l (vin)	0,05 (AB)	0,06	0,02 (A)	0,2 (AB)	0,1 (B)

Les lettres (A, B, C) correspondent aux modalités ANOVA sur la valeur réelle mesurée.

principalement dans nos régions de Suisse occidentale, où il est extrêmement rare que les concentrations dépassent 10 g/l d'acide malique à la vendange.

Pour les vins, ces appareils donnent une relativement bonne estimation jusqu'à des concentrations d'environ 0,3 g/l, ce qui permet en général de décider de la fin d'une fermentation malolactique. En deçà, ces méthodes, comme d'ailleurs le WineScan ou même les méthodes de référence, ont un degré de précision insuffisant. De plus, les interférences éventuelles dans des vins très colorés ne peuvent pas vraiment être éliminées, sauf en diluant l'échantillon.

Remerciements

Nous tenons à remercier les maisons Biolanmb et Megazyme International Ireland Limited pour la mise à disposition gracieuse de leurs appareils Biolan® et MegaQuant® (inclus kits de démarrage) destinés à cette étude, ainsi que le personnel du laboratoire du groupe «Qualité des vins» à Changins pour la préparation des moûts, les mesures WineScan® et les analyses de références sur analyseur séquentiel.

Conclusions

- Les appareils testés sont d'utilisation assez simple, transportables et d'un prix abordable, bien que les kits de consommables puissent devenir coûteux à long terme.
- Avec un minimum d'équipement de laboratoire, un peu d'entraînement et des consignes de précision et de rigueur, ils fournissent des résultats satisfaisants aussi bien pour le suivi des maturations du raisin que pour celui des fermentations malolactiques.
- Ces résultats sont toutefois à considérer uniquement dans le cadre de pratiques vitivinicoles classiques. La fiabilité des mesures que d'autres praticiens pourraient faire ou l'extrapolation à des matrices différentes (mistelles ou pommes, par exemple) n'est pas garantie, en particulier en présence de concentrations extrêmes en acide malique (plus de 10 g/l ou moins de 0,3 g/l). ■

■ Summary

Evaluation of practice-oriented devices for the measurement of malic acid in musts and wines

Three cheap, user-friendly and practice-oriented devices were tested and compared to one Agroscope reference method for the determination of malic acid during grape ripening and during malolactic fermentation in the cellar. With a minimum of training, experimental rigor and manual handling, these devices, for their ease of use and their analytical reliability, provide results that correspond to the accuracy that can be expected during classical vitivinicultural use, especially in western Switzerland where you are unlikely to find more than 10 g/l of malic acid at harvest.

Key words: malic acid, analysis, field-devices, comparison, practice, accuracy, reliability.

■ Zusammenfassung

Vergleichstest von praxisorientierten Geräten zur Messung der Apfelsäure im Most und Wein

Drei preiswerte, praxisorientierte und einfach zu bedienende Geräte, wurden während der Reifung der Trauben und dem biologischen Säureabbau im Keller geprüft und an einer Agroscope Referenzmethode für die Apfelsäuremessung verglichen. Unter Beachtung einer minimalen Ausbildung, experimenteller Genauigkeit und Handhabung entsprechen diese Geräte, sowohl bezüglich ihrer einfachen Anwendung als auch ihrer analytischen Zuverlässigkeit, der Präzision, die klassischerweise in der Weinbranche erwartet werden kann, vor allem in der Westschweiz, wo man vor der Weinlese selten über 10 g/l Apfelsäure findet.

■ Riassunto

Valutazione di dispositivi destinati alla pratica per la misurazione dell'acido malico nei mosti e nei vini

Tre dispositivi poco costosi, semplici da usare e, principalmente destinati alla pratica per la determinazione dell'acido malico durante la maturazione delle uve e durante la fermentazione malolattica in cantina sono stati testati e confrontati con il metodo di riferimento di Agroscope Changins. Questi apparecchi, pur presentando una facilità d'uso e un'affidabilità analitica, necessitano di un minimo di formazione, un rigore sperimentale e una certa pratica, affinché corrisponda alla precisione ottenuta mediante metodi classici. Questo vale particolarmente per la Svizzera romanda dove il tenore di acido malico eccede raramente 10 g/l durante vendemmia.